

=총설=

식품 및 수질시료 중 항생제의 분석법

이신녀 · 홍종기*

한국기초과학지원연구원, 유해물질분석연구원
(2004. 8. 6. 접수, 2004. 8. 26 승인)

Analytical Methods of Antibiotics in Food and Aqueous Sample

Sun-Neo Lee and Jongki Hong*

Hazardous Substance Research Team, Korea Basic Science Institute, Seoul 136-701, Korea
(Received Aug. 6, 2004, Accepted Aug. 26, 2004)

1. 서 론

현대 의학의 발전에 따라 인류건강을 위한 많은 의약품들이 나오고 있다. 그 중에서도 가장 큰 발전이라 볼 수 있는 것이 항생제의 발견이다 항생작용의 연구는 1877년 Pasteur와 Joubert가 미생물에서 얻은 추출물에 치료 효능이 있음을 발견함으로써 시작되었다.¹ 그 후 1930년대 sulfanilamide와 penicillin의 발견으로 페렴구균, 포도구균, 수막염균 및 매독균 등에 의한 감염에 화학 치료법이 사용되기 시작하였으며, 1950년대는 가축의 질병 예방 및 축산 증진을 위해 oxytetracycline과 chlortetracycline을 사료의 첨가제로 이용하였다. 그 이후 1980년대부터는 축산 사료의 60% 이상에 이 물질들을 첨가하여 사용하였다.²

이것들은 인간의 질병 치료 목적으로 개발되었으나 현재에는 인간의 질병 치료 목적 이외에도 식품 보존제, 과실용 살균제, 동물의 질병 예방 및 성장 촉진을 위한 사료첨가 등 다양한 목적에서 사용되고 있다. 그러나 이런 항생제들은 오용, 남용하게 되면 오히려 가축의 발육에 저해 요인으로 작용하게 되거나 내성균의 출현으로 인하여 질병 치료에 어려움을 주게 될 뿐만

아니라 가공된 식품으로 섭취하였을 경우 사람의 건강에도 해를 줄 수 있다. 또한 동물 배설물로 인하여 환경으로 유입되어진 항생제 잔류물질들은 수질, 토양을 오염시키고, 식수를 통하여 인간에게도 해로운 부작용을 발휘하게 된다.

이런 항생제를 포함한 동물용의약품의 안전성에 대해 세계적으로 관심을 갖게 된 것은 1960년대 FAO/WHO 합동 식품 첨가물 전문가 위원회에서 축산 식품 중 항생제의 잔류를 경고한 이후부터 이다.³ 그 후 1969년 영국에서는 사료 첨가제로 인하여 인체에 해를 줄 수 있다하여 규제를 강화하였으며, 1986년 10월 국제식품규격기구인 CODEX에서는 1차 식품 중 동물용 의약품잔류회의를 개최하여 국제적 잔류허용기준을 설정하는 계기를 마련하였다.³ 현재 여러 국제단체와 유럽공동체 (EC), 유럽 연합 (EU) 등에서는 동물용의약품 3000여개 이상을 규제 대상으로 등록하였다.⁴ 우리나라에서는 1988년 일본에 수출한 sulfamethzine이 함유된 돼지고기가 반송 조치되는 것을 계기로 현재는 식육, 어류, 우유 등에 대해 항생물질 잔류허용기준을 설정하였다.^{2,3} 그러나 불행히도 현재 국제적으로 통일된 잔류허용기준이 존재하지 않기 때문에 이 물질들의 정확한 분석이 더욱 필요한 실정이다.

항생제를 분석하는데 있어 초기에 가장 많이 사용된 방법은 미생물 분석법이다.⁴ 이 방법은 항생제의

* Corresponding author
Phone : +82+(0)2-920-0790 Fax : +82+(0)2-920-0789
E-mail : jongki@kbsi.re.kr

미생물 발육 억제력을 이용하여 잔류량을 측정하는 방법으로 비교적 단순하게 다성분 동시분석이 가능하며 고가의 분석 장비를 필요로 하지 않아 경제적이다. 그러나 재현성과 특이성이 떨어지고 시료 중 자연적으로 존재하는 효소나 지방의 작용으로 정확성을 떨어뜨리는 단점이 있다. 그 외 면역화학적 원리를 이용한 효소 면역측정법 (enzyme immuno assay, EIA), 방사능 면역측정법 (radio immuno assay, RIA) 및 화학발광 면역측정법 (chemilumino immuno assay, CIA) 등⁵도 이용되어졌다. 이 방법들은 분석 대상인 잔류 물질 항원과 특이 항체 사이의 면역학적 특이 결합반응을 이용하여 표준항원물질에 표식 되어 있는 효소, 동위원소 또는 화학발광체가 발생하는 발색 정도나 방사능을 측정하여 정량 및 정성분석을 하는 것으로 검출 감도, 재현성 및 특이성이 우수하여 널리 이용되고 있다. 이 같은 방법들은 신속하게 대량시료를 검사할 수 있는 장점을 지니고 있으나 항생제별로 정량분석을 하기 위해서는 HPLC, GC, GC/MS, LC/MS 등의 정밀 분석 장치가 필요하다.⁴

항생제 잔류 물질을 분석하는데 있어 실제 시료는 복잡한 생물매질을 지니고 있고 함유되어 있는 잔류물질의 농도가 매우 낮기 때문에 전처리 과정과 분석기기의 고감도가 필수적으로 요구되어진다. 일반적으로 가장 널리 사용 되어지는 전처리 방법에는 고체상 추출법 (solid-phase extraction, SPE), 고체상 미량 추출법 (solid-phase microextraction, SPME), 액-액 추출법 (liquid liquid extraction, LLE) 등이 있다. 그러나 고체상 미량 추출법은 복잡한 생물 매질로 인하여 전체적으로 항생제의 추출이 용이하지 않는 단점이 있다. 액-액 추출법은 많은 시간과 노동력을 요구하기 때문에 보다 효율적인 추출을 위하여 고체상 추출법이 널리 사용되고 있다.⁵ 초임계 유체추출법 (supercritical-fluid extraction, SFE) 또한 약품 분석에 있어 잠재력이 있어 보이나, 이 방법을 이용하기 위해서는 특정 장치와 분석조건의 적정성을 요구되어지기 때문에 널리 이용되지는 않는다.

항생제 잔류물질의 기기분석은 기체크로마토그래피 질량분석법이나 tandem 분석법 (gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC/MS/MS)이 이용되었다. 그러나 항생제 잔류물질들은 유기 용매에 대한 용해도가 낮으며 분자량이 커서 휘발성이 떨어지고 열에도 불안정하여 GC 또는 GC/MS로 분석이 용이하지 않는 단점이

있다. 또한 각각의 잔류물질에 존재하는 작용기가 다양하기 때문에 동시에 유도체화를 실행하는 것이 용이하지 않아 GC/MS를 이용한 분석은 적합하지 못하다. 반면 질량분석기와 연결된 고성능 액체 크로마토그래피 (high-performance liquid chromatography, HPLC)는 극성 물질 또는 열에 불안정한 화합물까지 분리, 정성, 정량하는데 있어 매우 뛰어나다. 따라서 최근에는 여러 항생제 잔류물질들을 액체크로마토그래피 질량분석법 (liquid chromatography - mass spectrometry, LC/MS) 과 전기영동 질량분석법 (capillary electrophoresis, CE/MS) 으로 분석하고 있다.⁶ 특히 LC/MS/MS 방법은 뛰어난 특이성과 선택성 때문에 항생제 잔류물질을 분석하는데 있어 매우 적합하다. 이외에도 현재 여러 연구를 통하여 다양한 잔류물질을 동시에 분석하기 위한 방법들을 개발하고 있는 중이다.

현재 세계 각국은 항생제의 사용을 엄격히 규제하고 있으며, 우리나라 역시 항생제의 오용 및 남용에 대한 촉각을 곤두 세웠다. 그러나 축산 식품이나 여러 환경에서의 잔류 물질 분석에 관한 연구가 비교적 적은 우리나라로서는 검사방법의 차이로 인한 무역 분쟁의 가능성에 대비하여 보다 정확하게 잔류 물질을 동시에 분석할 수 있는 확인 검사법이 필요한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 항생제의 화학적 및 물리적 특성을 조사하고, 수질 및 식품에서 이들 물질에 대한 추출과 정제 및 최근에 개발된 정밀 항생제 분석법을 소개하고자 한다.

2. 항생제의 특성

항생제는 미생물이 생산하는 대사산물로 소량으로 다른 미생물의 발육을 억제하거나 사멸시키는 물질이다.¹ 대표적인 항생제로 미생물에서 추출 된 penicillin계, tetracycline계, macrolide계, aminoglycoside계, tetracycline계, amphenicol계와 합성된 sulfonamide계, nitroimidazole계, nitrofurane계, quinolone계 등이 있다.⁷ 이 중 동물용 의약품으로 tetracycline, sulfonamide, aminoglycoside, β -lactam, macrolide가 사용되고 있다.² 이들 대표적 항생제의 화학적 구조는 Fig. 1.에 실었다.

항생제는 사용 분야, 분자 구조, 다양한 화학 및 물리적 성질에 따라 분류된다. 이들 대부분의 항생제는 매질의 pH에 따라 이온화 경향에 차이를 보이며 화합물에 존재하는 작용기에 따라 pKa 값도 다르다. 최근

Substance	Structure
Tetracyclines	
Chlortetracycline	R1=Cl; R2=OH; R3=CH3; R4=H
Doxycycline	R1=H; R2=H; R3=CH3; R4=OH
Oxytetracycline	R1=H; R2=OH; R3=CH3; R4=OH
Tetracycline	R1=H; R2=OH; R3=CH3; R4=H
Sulfonamides	
R	Sulfachloropyridazine
	Sulfamethazine
	Sulfadimethoxine
	Sulfamethoxazole
	Sulfamerazine
	Sulfathiazole
β-Lactams	β-Lactam structure
	Cephalosporin structure
R	Amoxicillin
	Ceftiofur
	Ampicillin
	Pencillin G
	Cephapirin
	Penicillin V

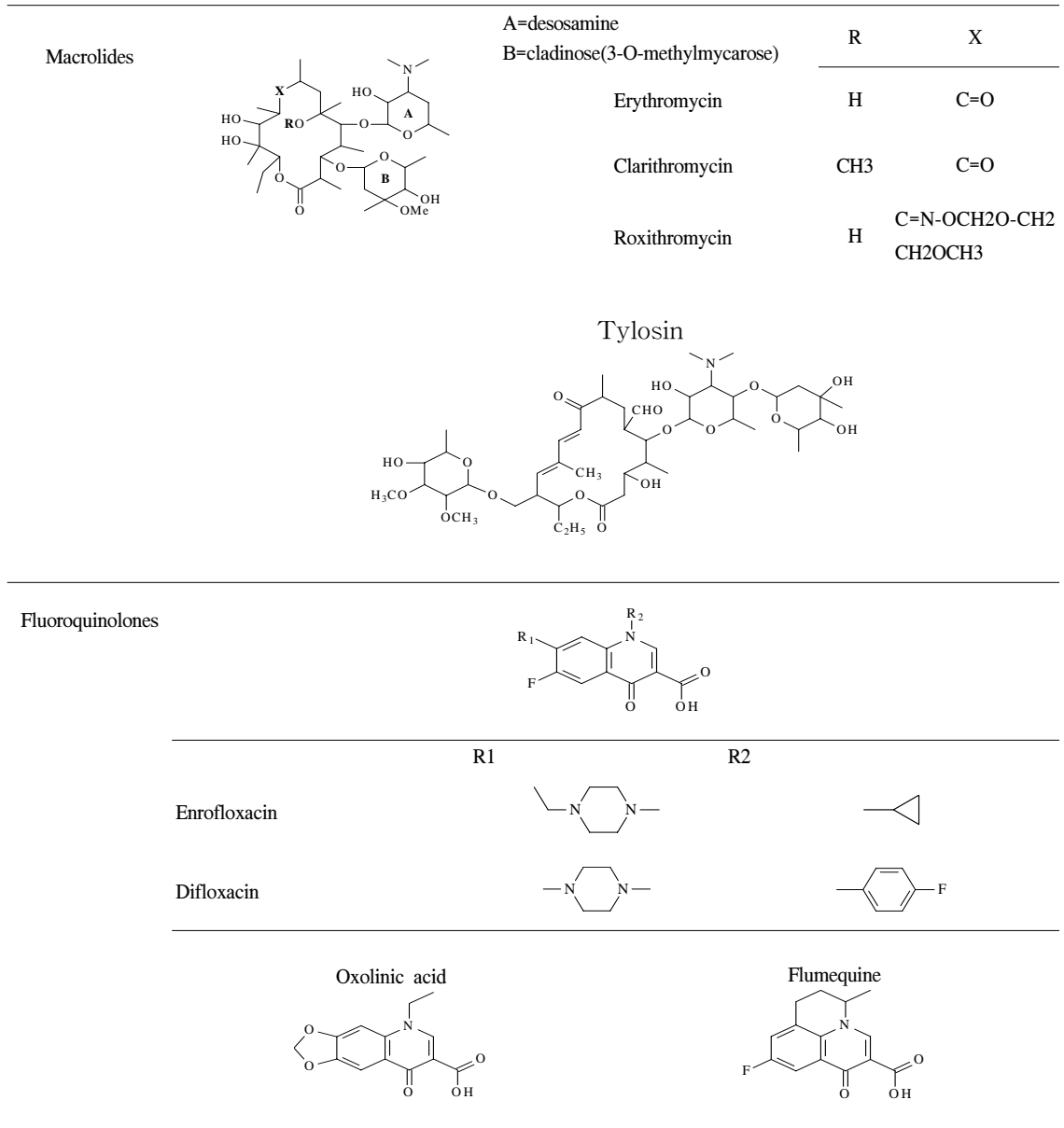


Fig. 1. Chemical structures of representative antibiotics and their analogues.

에 많이 사용되고 있는 주요 항생제의 물리적 및 화학적 특성을 Table 1에 정리하였다.

대표적인 항생제 그룹 중의 하나인 tetracycline계 (TCs)의 기본적 구조는 네 개의 견고한 ring을 가지고 있는 hydroxynaphthacene이다. 이 ring의 R₁, R₂, R₃, R₄ 위치의 치환기에 따라 여러 화합물로 구분된다 (Fig. 1). 또한, 세 개의 pKa 값을 가지고 있는 양쪽성의 화합물로 다른 항생제에 비해 산성에 안정하고 염기성에 불안

정하며 양쪽 매질 모두에서 염을 형성 한다.⁸ TCs의 화합물 중 chlortetracycline, oxytetracycline, tetracycline, doxycycline이 동물 먹이 첨가제로 가장 많이 사용되고 있다. 이들은 C1과 C11의 위치에 있는 두 개의 ketone group으로 인해 2가의 금속 이온과 쉽게 킬레이트 화합물을 형성한다.² 또한 silanol group과 강하게 결합하므로 분석물질의 손실을 피하기 위해서는 시료 전 처리 단계에서 킬레이트 시약을 첨가해 주는 것이 좋다.

Table 1. Representative pharmaceutical antibiotics and typical ranges of physicochemical properties from selected classes of antibiotics⁸

Compound class	Molar mass g mol ⁻¹	Water solubility mg l ⁻¹	log K _{ow}	pKa	Henry's constant Pa l mol ⁻¹
Tetracyclines chlortetracycline, oxytetracycline, tetracycline	444.5-527.6	230-52000	-1.3-0.05	3.3/ 7.7/ 9.3	1.7×10 ⁻²³ -4.8×10 ⁻²²
Sulfonamides sulfanilamide, sulfadiazine, sulfadimidine, sulfadimethoxine, sulfapyridine, sulfamethoxazole	172.2-300.3	7.5-1500	-0.1-1.7	2-3/ 4.5-10.6	1.3×10 ⁻¹² -1.8×10 ⁻⁸
Aminoglycosides kanamycin, neomycin, streptomycin	332.4-615.6	10-500	-8.1-0.8	6.9-8.5	8.5×10 ⁻¹² -4.1×10 ⁻⁸
β-Lactams penicillins: ampicillin, meropenem, penicillin G; cephalosporins: ceftiofur, cefotiam	334.4-470.3	22-10100	0.9-2.9	2.7	2.5×10 ⁻¹⁹ -1.2×10 ⁻¹²
Macrolides erythromycin, oleandomycin, tylosin	687.9-916.1	0.45-15	1.6-3.1	7.7-8.9	7.8×10 ⁻³⁶ -2.0×10 ⁻²⁶
Fluoroquinolones ciprofloxacin, enrofloxacin, flumequin, sarafloxacin, oxolinic acid	229.5-417.6	3.2-17790	-1.0-1.6	8.6	5.2×10 ⁻¹⁷ -3.2×10 ⁻⁸
Imidazoles fenbendazole, metronidazole, oxfendazole	171.5-315.3	6.3-407	-0.02-3.9	2.4	2.3×10 ⁻¹³ -2.7×10 ⁻¹⁰
Polypeptides avermectin, bacitracin, ivermectin, virginiamycin	499.6-1038	not-completely	-1.0-3.2		negligible-2.8×10 ⁻²³
Polyethers monensin, salinomycin	670.9-751.0	2.2×10 ⁻⁶ -3.1×10 ⁻³	5.4-8.5	6.4	2.1×10 ⁻¹⁸ -1.5×10 ⁻¹⁸
Glycopeptides vancomycin	1450.7	> 1000	not soluble in 5.0 octanol		negligible
Quinoxaline-derivatives olaquindos	263.3	1.0×106	-2.2	10	1.1×10 ⁻¹⁸

Sulfonamide계 (SAs)는 sulfamide group에 다양한 치환체가 결합되어 있는 구조로 비교적 물에 대한 용해도가 좋다.² 이들은 pH 2-3에서 amino group의 양성자화 (protonation) 와 pH 5-11에서 R₁SO₂NHR₂의 탈양성자화 (deprotonation)가 일어나는 두 개의 pKa 값을 갖는다.⁸ 일반적으로 양성자의 SAs는 약산과 비슷한 양상을 보이며, 강한 산성 용액이나 염기성 용액에서 염을 형성한다. 또한, 아미노 그룹의 질소원자가 치환된 화합물은 항생제의 활성이 감소된다고 보고 되었다.⁸

Aminoglycoside계의 항생제는 염기성이고 매우 극성인 다양이온 (polycation) 화합물이다. 이들의 분자구조는 두개 이상의 amino sugar에 의해 구분된다. 또한 물에 대한 용해도가 높아 일반적인 유기 용매로 추출

하기 어려운 점이 있으며, 태양광에 의해 광분해가 일어날 수 있다.⁸

β-Lactam (BLs)은 penicillin계와 cephalosporin계로 나누어진다. Fig. 1에서 보는 바와 같이, penicillin은 thiazolidine ring (I)과 β-lactam ring (II), side chain (R)으로 구성되어 있으며, 불안정한 β-lactam ring으로 인하여 열에 의해 분해 되기 쉽다. 항생제 효과 역시 β-lactam ring과 밀접한 관계가 있으며, 산성이나 염기 매질에서도 쉽게 깨지므로 신중한 전 처리과정이 요구된다.⁸ Cephalosporin은 C7 위치에 carbamate group을 에스테르화한 R1과 핵에 side chain으로 있는 R2 그리고 cephem 구조의 핵으로 이루어져 있다.¹ Penicillin계와 cephalosporin계의 화학구조상 가장 큰 차이는 penicillin은 오각형의 heterocyclic ring 형태의 6-APA

(6-aminopenicillamic acid)이고, cephalosporin은 육각형의 heterocyclic ring 형태의 7-ACA (7-aminocephalosporanic acid)를 가지고 있다는 것이다.

Macrolide계 (MLs)는 macrocyclic lactone 구조로 12-, 14-, 16-의 위치에 amino group이 치환된 또는 deoxysugar를 가진 당체 (glycone)가 결합되어 있다.² 이들 대부분은 약염기 성질을 띠고 산에 불안정하다. 또한 β -lactam계의 항생제와 마찬가지로 시료의 전 처리 과정에서 산과 염기에 의해 분해 되는 경향이 있다.⁸

Quinolone으로 알려진 fluoroquinolone계 (FQs)는 화학적으로 안정하다. 이들은 가수분해 조건이나 고온에서도 분해반응이 일어나지 않으나 UV에 의한 광분해는 쉽게 일어나는 특징을 가지고 있다.⁷ Quinolone의 항생 작용능력은 대부분 C6 위치에 있는 aromatic fluorine 치환체에 의해 결정된다고 보고되었다.⁸

3. 시료 전 처리

시료 전 처리는 검출 방해 요소인 거대 분자와 다른 매질 성분을 제거하고, 분석 물질을 농축하여 실험에서 요구되는 낮은 검출 한계를 달성하기 위해 실행된다.

일반적으로 생물학적 활성을 기초로 한 미생물분석법과 같은 스크린 방법은 선택성과 감도가 좋기 때문에 최소한의 추출과 정제 과정을 요한다. 그러나 크로마토그래피나 분광 분석기를 이용한 정량 및 정성 분석 시에는 분석에 앞서 추출의 단계가 신중하게 이루어져야 한다.

항생제를 추출하고 정제하는데 이용되는 대표적인 기술은 액-액 추출법과 고체상 추출법이 있다. 액-액 추출법의 이론⁹은 생물 시료보다는 이상 용액에 기초를 두고 있으며, 고체상 추출법¹⁰은 크로마토그래피 이론에 기반을 두고 있다.

액-액 추출법은 분석물질에 대한 추출 물질의 용해도가 매우 중요하다. 따라서 추출 시에는 적합한 용매 선택이 이루어져야 한다. 항생제 추출에서 용매 선택은 실제 관찰에 의한 경험적 기술과 용매와 용질의 열역학적 특성에 의한 열역학적 기술을 이용한다.¹¹ 용매의 극성, 쌍극자-쌍극자 상호작용, 양성자 주개, 양성자 받개, 격자 에너지와 용질의 응집 에너지는 용해도와 관련된 주요 열역학적 특성이다. Salvatore와 Katz¹²는 여러 다른 유기 용매에 대한 항생제 (ery-

thromycin, oleandomycin, tylosin, streptomycin, spectinomycin, oxytetracycline, chlortetracycline, penicillin G 등) 각각의 용해도를 밝힌 바 있다. 한 예로 macrolide (erythromycin, tylosin), tetracycline, peptide 항생제의 용해도는 용매의 극성이 증가될수록 증가하였으며, aminoglycosides neomycin과 streptomycin은 모든 용매에서 용해도가 낮았다. 그러나 이들은 pH의 영향은 고려하지 않았다. pH는 이온화되는 약품의 용해도에 극적 효과를 미친다. Oxytetracycline의 경우 pH가 1에서 5로 증가하면 용해도는 31 g/L에서 0.5 g/L로 감소한다.⁹ 따라서 용액에서 약품의 용해도를 결정할 때에는 pKa와 pH가 함께 고려되어야 한다.

액-액 추출법과 비교했을 시 고체상 추출법은 소량의 시료로 빠르고, 재현성 있으며 깨끗한 추출물을 얻을 수 있다.¹³ 또한 노동력과 사용 용매를 줄일 수 있어 더 경제적이다. 그 외에도 고체상 추출법은 쉽게 자동화가 가능하여 정확하고 정밀한 결과를 얻을 수 있다. 이처럼 고체상 추출법은 액-액 추출법에 비해 효율적인 추출법으로써 분석 시험실에서 일반적으로 사용되어지는 방법이다.

고체상 추출법은 다음과 같은 단계로 실행한다. 먼저 재현성을 유지하기 위해 흡착제를 적당한 용매로 컨디션 시킨 후 흡착제에 시료를 주입한다. 이 때 흡착된 물질들 중 분석물질 이외의 물질들을 제거하기 위하여 용매로 씻어낸다. 마지막으로 분석물질과 흡착제의 상호작용을 이용하여 용출시킨다.

많은 항생제들은 비극성의 중심부와 극성의 작용기로 이루어져 있다.¹⁴ 이것들은 매질의 pH에 따라 양성자화 되거나 해리되고 주위 환경에 민감하기 때문에 상당히 쉽게 변화가 일어난다. 따라서 극성이나 비극성의 성질을 가진 항생제를 추출하기 위해 고체상 추출용 용매에 강하게 흡착시키는 것은 심각한 분석 문제를 야기시킬 수 있다. 그러므로 대부분의 항생제 추출은 약한 산성을 띤 완충 용액이 들어 있는 유기용매를 이용하는 것이 좋다. 식품 분석에서는 주로 0.1 M EDTA-McIlVaine 완충용액 (pH 4.0)이 사용되며^{14,15}, Cooper et al.¹⁶은 tetracycline계의 추출 시 citric ethylacetate (pH 5.0)의 사용을 제안하기도 하였다. Oka et al.¹⁷은 tetracycline의 추출과 분석에 대한 기술을 서술하였으며, 방법들에 대해서는 Juhel-Gaugain et al.¹⁴의 실험에서 볼 수 있다. Tetracycline은 Ca^{2+} 와 결합하기 때문에 OECD (1997)에서 제시한 추출 방법인 0.01 M

Table 2. Selected examples for extraction, separation and detection of antibiotic pharmaceutical in environmental and food samples

Class/compound	Sample	Extractant	Clean-up	Column type	Eluent	Detection & -limits	Reference
Multiple classes ^b	manure, water	SPE: Lichrolute EN + C18, TCS: lyophilization		C18 125×3; 5 μ m TCS: C8 125×3; 5 μ m	10mM NH ₄ OAc in H ₂ O/ACN; TCS: 20mM oxalic acid in H ₂ O/ACN	MS/MS ESI ⁺ ; < 0.5 μ g l ⁻¹	Hirsch et al., 1998 Campagnolo et al., 2002
Multiple classes	water	SPE: HLB+MCX with Na ₂ EDTA+ C ₁₀ H ₁₄ O ₈ -Na ₂ N-H ₂ O		C8 150×2; 3 μ m	NH ₄ CHO ₂ :CH ₂ O ₂ buffer pH 3.7/ACN, gradient	MS ESI ⁺ ; < 0.01 μ g l ⁻¹	Kolpin et al., 2002
Amino-glycosides	animal feed	MeOH ^f :Tris-succinate buffer pH8 (25:75)	var. solvent washings	agarose gel electro-phoresis at pH 6.0 and 8.0		bioautography	Salvatore and Katz, 1993
Benzimidazoles	milk	ACN ^g +MeCl ₂ ⁱ	liquid/liquid	Hichrom Nucleosil C18 250×4.6; 5-120 μ m	ACN:0.01M H ₃ PO ₄ (30:70), 1ml min ⁻¹	UV 290nm; 5 ng ml ⁻¹	Long et al., 1989
	plasma, faeces, urine	H ₂ O+conc. NaOH (8:1)	filtration	Varian MicroPac MCH 10, C18	0.05N H ₃ PO ₄ /ACN (22:78) gradient	UV 290nm; 5 ng ml ⁻¹	Barker et al., 1986
Fluoro-quinolones	animal tissues	on-line immunoaffinity capture with antibodies	column with antibodies	Inertsil Phenyl	2% acetic acid:ACN (85:15); 0.7ml min ⁻¹	FLD ex 280 em 444 nm;0.32-0.87 ng ml ⁻¹	Holtzapfle et al., 1999
	waste-water	mixed-phase cation-exchange disks		Discovery C16 250×3	25mM H ₃ PO ₄ /ACN, 0.7ml min ⁻¹ , gradient	FLD ex 278 em 445 nm	Golet et al., 2001
Macrolides (Tylosin)		ACN:H ₂ O (1:1)		Alltech RSil C18-HL, 100×3.2; 5 μ m	ACN:H ₂ O:diethylamine (500:500:0.1), 1ml min ⁻¹	UV 203 nm	Bens et al., 1982
	manure	MeOH	centrifugation, 0.45 μ m filtration	YMC-Pack ODS-AQ 250×4.6; 5 μ m	2.25% Na perchlorate (pH2.5 with HCl):ACN (60:40), 1.0ml min ⁻¹	UN 290 nm; 5 ng ml ⁻¹	Loke et al., 2000
	manure, soil	phosphate buffer + methanol (1:2)	SPE: C18	Phenomenex ODS Prodigy 250×4.6; 5 μ m	isocratic	UV	De Liquoro et al., 2002
Metronidazole, Olaquinox	soil-manure slurry	H ₂ O	centrifugation, 0.45 μ m filtration	Spherisorb ODS2 C18 125×4.6; 5 μ m	ACN/1mM EDTA/16.7 mM acetic acid + 4M NaOH (pH5), 1ml min ⁻¹ , gradient	UV 260 nm	Ingerslev and Halling-Sorensen, 2001
β -Lactams	milk	SPE Carbograph 4	evaporation, 0.45 μ m filtration	C18 250×4.6; 5 μ m	MeOH/H ₂ O + 10mM formic acid, 1ml min ⁻¹	MS/MS ESI ⁺ /- 0.4-3 μ g l ⁻¹	Bruno et al., 2001
(Penicillins)	milk	phosphate buffer pH8, C18 SPE	EtOAc ^k for lipids removal	C2 150×5; 10 μ m	ion pair chromatography phosphate buffer with ion pairing reagent/ACN	DAD	Marchetti et al., 2001
Polyethers (Salinomycin, Monensin, Lasalocid)	animal feed	ACN	SPE: Silica	Develosil 5 C18 250×4.6; 100 μ m	MeOH:H ₂ O 97:3 isocratic	FLD ex 360 em 420 nm	Asakabe et al., 1994
Sulfonamides	marine sediment	0.1N NaOH	centrifugation	C18, 100×4.6; 3 μ m	0.05M H ₃ PO ₄ /ACN, gradient	UV 270nm	Samuelsen et al., 1994
	sewage sludge	H ₂ O	centrifugation, 0.45 μ m filtration	Phenomenex ODS2 C18 125×4.6; 5 μ m	ACN:16.7mM acetic acid/ (pH5 with 4M NaOH) (17.5:82.5), 1ml min ⁻¹	UV 280 nm	Ingerslev and Halling-Sorensen, 2000
	soil	MeOH	SPE: C18	Nucleosil C18 250×4.6; 100-5 μ m	0.01M H ₃ PO ₄ /MeOH, 1ml min ⁻¹ , gradient	UV 265 nm	Thiele, 2000
+Trimethoprim	animal manure	pH9 with KOH, EtOAc	separation of EtOAc, 0.45 μ m filtration	Nucleosil C18 125×3; 100-5 μ m	H ₂ O:1mM NH ₄ OAc+ 10% ACN/ACN, 0.25ml min ⁻¹ , gradient	MS/MS ESI ⁺	Haller et al., 2002
Sulfonam. & Tetracyclines	water	SPE: macroporous polymer (HLB)+ Na ₂ EDTA		Luna C8 100×4.6; 3 μ m	NH ₄ formiate/formic acid buffer; 0.6ml min ⁻¹ , gradient	MS ESI ⁺ ; < 1 μ g l ⁻¹	Lindsey et al., 2001
Tetracyclines	animal tissues	McIlvine EDTA buffer pH4 + MeOH	SPE:C18	C8 or C18, 100-5 μ m	oxalic acid/ACN	UV 350-375 nm	Juhal-Gauguin, 2000
	manure	MeOH	0.45 μ m filtration	Waters XTerra C18 150×3; 3.5 μ m	MeOH/formic acid/H ₂ O, 0.4ml min ⁻¹ , gradient	MS/MS ESI ⁺	Loke et al., 2003
	soil	1M citrate buffer (pH4.7) + EtOAc	evaporation	Puresil C18 150×4.6; 5 μ m	1mM NH ₄ OAc (pH2.5)+0.5% formic acid/ACN, 1ml min ⁻¹	MS/MS ESI ⁺	Hamscher et al., 2002

^acolumn temperature (°C), injection volume (μ l); ^bpenicillines, macrolides, SAs, TCS; ^csolid phase extraction; ^delectrospray ionization positive ion mode;

^eelectrospray ionization negative ion mode; ^fFQs, lincosamide, macrolides, polypeptides, SAs, TCS; ^gmethanol; ^hacetonitrile; ⁱmethylenechloride; ^jethylacetate

CaCl₂ 이용은 적합하지 않다. 따라서 CaCl₂의 사용 대신 0.1M NH₄NO₃를 사용하는 것이 좋다. 그 밖의 환경시료나 식품에 존재하는 항생제의 추출, 분리, 검출에 관한 몇 가지 실험 방법을 Table 2에 정리하였다.

Sulfonamide의 고체상 추출법에서 역상은 매우 효과적이다. 그러나 tetracycline에서는 역상을 이용할 때 컨디션닝과 용출을 위해 산성의 완충용액을 사용하기 때문에 EDTA나 silylating agent로 고체상의 전 처리를 해야 한다.¹⁸⁻¹⁹ 또한 silylation이 되지 않은 free silanol group과의 결합력이 매우 강하기 때문에 일반적으로 많이 사용되는 유기 용매로는 용출시킬 수 없다. 이에 Lindsey et al.²⁰은 킬레이트 시약으로 Na₂EDTA와 결합된 큰 구멍이 난 공중합체 (copolymer)를 제안했다.

많은 항생제들은 양성의 성질을 지니고 있다. 따라서 추출의 효율성을 높이기 위하여 새로운 작용기를 가진 고체상 물질 (hydrophilic-lipophilic balance cartridges, HLB; mixed-mode HLB-cation exchanges cartridge, MCX)들을 개발하였다.²¹ Golet et al.²²은 비극성 상과 강한 양이온 교환기 (strong cation exchanger)로 구성되어진 흡착제인 mixed-mode silica로 수질시료로부터 fluoroquinolone을 추출하였다.

최근에는 가속 용매 추출법 (accelerated solvent extraction, ASE)을 이용하여 추출하기도 하는데, 이 방법은 용매 소모량이 적으며 다양한 용매로 연속적인 추출이 가능하다. 또한 추출의 자동화가 가능하여 노동력과 소요 시간을 줄일 수 있다.²³ 일반적으로 시료 정제는 고체 추출법이나 0.45 μm 여과에 의해 실행되며, 원심 분리와 액-액 분리로부터 얻은 추출물은 대개 증발시켜 농축시킨다.

4. 분석 방법

현재 항생제 잔류물질을 규제하는 프로그램은 스크린 방법 (screening method) 과 확인 과정 (confirmation method)으로 이루어져 있다. 스크린 과정은 의심되는 시료에서 잔류물질의 존재 여부를 판독하는 과정으로 시료의 분석 단계에 있어 제일 처음 시행되는 과정이다. 이 과정은 모든 시료를 간단하고 일괄적으로 검출할 수 있다는 장점이 있으며 일반적으로 생물학적 활성을 이용한 생물학적 방법들에 의해 주로 이루어진다. 이런 스크린 과정은 유사한 특성을 지닌 항생제 그룹을 분석하기 위한 동시 다성분 잔류분석 (multi-residue

method) 방법과 특징적인 약품을 분석하기 위한 단일 분석법 (single-residue method) 으로 이루어진다.

스크린 과정에서 항생제 잔류물질의 존재가 확인되면 이 물질들 각각을 확인하기 위한 확인과정이 이루어진다. 이 과정은 물리, 화학적 작용을 바탕으로 한 화학적 방법에 의해 이루어진다. 특히, 사용이 금지된 화합물의 확인이외에도 각 물질의 정량을 통하여 사용량이 규제된 화합물의 최대 잔류 허용 한계 (maximum residue level, MRL)의 초과도 확인할 수 있다. 최근에는 정밀분석 장비들의 발전으로 극미량의 항생물질의 정량 및 정성 동시 분석이 가능하다. 따라서 항생제 분석에 있어 생물학적 방법보다는 다성분 잔류동시분석이 가능하고 정확한 정량분석이 가능한 화학적 방법을 선호하는 추세이다.

4.1. 생물학적 방법

화학적 방법으로 각 구성 성분의 조성이 정확히 규명되지 않는 상황에서 화합물 작용기 또는 특징적인 화합물의 효력을 규명하기 위해 생물학적 방법을 이용한다. 전통적으로 이 방법은 의약품이나 식품 중 항생제의 잔류 정도를 측정하는데 있어 기본적인 방법으로 이용되었다. 특히 미생물 분석법 (microbiological method)의 경우 미국, 영국 등에서 의약품과 항생제의 활성을 측정하는데 활용하고 있다. 이 방법의 단점은 지루하고 많은 시간을 소모하며, 금속 이온과 시료 매질에 있는 다른 물질들에 의해 생물 활성에 영향을 준다는 것이다. 그러나 검사 비용이 매우 저렴하고 특별한 검사장비가 필요 없기 때문에 아직까지 고효율 스크리닝 방법으로서 공공검사법으로 사용되고 있다.

미생물 분석법에는 통상적으로 사용하는 원판 확산법 (disk diffusion method), 최소발육억제농도 (minimal inhibitory concentration, MIC) 의 측정이 가능한 희석법 (dilution method), 집중원의 흡광과 투광을 이용한 비탁법 (turbidimetric method)이 있다.⁵ 최근에는 기존 방법보다 더 빠르고, 선택성이 좋은 효소면역학적 방법 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)이 개발되어 두각을 나타내고 있다. 이 방법은 면역 화학적 원리인 항원-항체 반응을 이용한 것으로 이외에도 방사능 면역 측정법 및 화학발광제 면역측정법등이 있다.²⁴

전통적으로 사용된 agardiffusion과 bioautography²⁵와 같은 미생물 억제 시험 (microbial inhibition test) 에 의한 항생제의 반정량 검출은 화학 분석이 보완되어

실행되어졌다. 그러나 항생제의 완벽한 평가를 위해서는 정량뿐만 아니라 잠재력까지 결정해야 한다. 따라서 현재 화학추출과 크로마토그래피 그리고 미생물 분석법을 연계한 새로운 기술이 연구되고 있다.²⁶

4.2. 화학적 방법

생물학적 방법은 유사한 활성을 지닌 화합물이나 발생하는 분해산물들을 구별할 수 없는 취약점을 가지고 있다. 반면 화학적 방법은 스크린, 정성 그리고 정확한 정량까지 분석이 가능하다. 따라서 다성분 잔류 항생제의 분석은 크로마토그래피 기술로 분리하고 다양한 분광 분석기로 검출하는 것을 기본으로 하고 있다. 이때 항생제의 잔류물질들이 크로마토그래피 컬럼에 있는 free silanol group과 결합하거나 헤리하는 현상을 피하기 위하여 묽은 산이나 약한 산성 완충용액 (phosphoric acid, citric acid, formic acid, oxalic acid, EDTA)을 이용한다.¹⁷ 경우에 따라서는 선택적으로 이온쌍 크로마토그래피 (ion pair chromatography)가 이용되기도 한다.

과거에 많이 사용되어진 얇은층 크로마토그래피 (thin layer chromatography, TLC) 는 시간과 용매의 소비량이 커서 UV와 다이오드 배열 검출기 (diode-array

detection) 가 연결된 액체 크로마토그래피 (HPLC-UV, -DAD) 로 대체되었다. DAD는 표준물질과 분석물질의 스펙트럼을 이용하여 구조적 정보를 얻는 방법으로 간섭을 제거하기 위한 시료 정제가 이루어 질 때 더욱 성공적인 결과를 얻을 수 있다.

질량분석기는 생물 시료에서 약품과 대사산물의 정량 및 구조 정보를 얻는데 매우 효과적인 기기이다. 현재는 대기압하에서 화학적으로 이온화하는 대기압 화학 이온화법 (atmospheric pressure chemical ionization, APCI), 전기 분무 이온화법 (electrospray ionization, ESI) 을 이용한 LC/MS 또는 LC/MS/MS의 이용이 증가되고 있다. 특히, LC/MS/MS는 특정 화합물의 구조에 대한 정보를 제공하는데 있어 매우 효과적이며 탄뎀질량분석 기법을 이용한 항생제 유사체 또는 대사체의 구조 규명에도 널리 사용되고 있다. 항생제들의 구조적 특성에 따른 각 화합물에 대한 MS/MS의 특징적 질량 값을 Table 3에 정리하였다. 각 구조의 특성에 따라 특징이온이 생성되며 이들 이온에 대한 분해 메커니즘을 해석하여 미지의 구조분석을 수행할 수 있다.

4.3. 질량 스펙트럼

TCs는 질량분석 스펙트럼상에서 [M+H]⁺ (oxytetra-

Table 3. The characteristic MS-MS ions of antibiotics

Class	Substance	Precursor ion	TCs	Oxytetracycline
TCs	Chlortetracycline	479 [M+H] ⁺	SAs	Sulfamethoxazole
	Doxycycline	445 [M+H] ⁺	BLs	Pencillin G
	Oxytetracycline	461 [M+H] ⁺	MLs	Roxithromycin
	Tetracycline	445 [M+H] ⁺	427 [M+H-H ₂ O] ⁺	410 [M+H-H ₂ O-NH ₃] ⁺
SAs	Sulfachloropyridazine	285 [M+H] ⁺	156 [M-NH-R] ⁺	108 [M-NH-SO-R] ⁺
	Sulfamethazine	279 [M+H] ⁺	204 [M+H-C ₆ H ₄] ⁺	156 [M-NH-R] ⁺
	Sulfadimethoxine	311 [M+H] ⁺	245 [M+H-H ₂ SO ₂] ⁺	156 [M-NH-R] ⁺
	Sulfamethoxazole	254 [M+H] ⁺	188 [M+H-H ₂ SO ₂] ⁺	156 [M-NH-R] ⁺
	Sulfamerazine	265 [M+H] ⁺	190 [M+H-C ₆ H ₄] ⁺	156 [M-NH-R] ⁺
	Sulfathiazole	256 [M+H] ⁺	156 [M-NH-R] ⁺	108 [M-NH-SO-R] ⁺
	Amoxicillin	366 [M+H] ⁺	349 [M+H-NH ₃] ⁺	160[cleavage in β-lactam+H] ⁺
BLs	Ampicillin	350 [M+H] ⁺	160[cleavage in β-lactam+H] ⁺	333 [M+H-NH ₂ -160] ⁺
	Pencillin G	357 [M+Na] ⁺	198	313
	Penicillin V	373 [M+Na] ⁺	214	182
	MLs	Erythromycin	716 [M-H ₂ O+H] ⁺	576 [M+H-desosamine] ⁺
Clarithromycin		750 [M+H] ⁺	116 [cladinose ⁹ +H-OCH ₃] ⁺	592 [M+H-desosamine ⁹] ⁺
Roxithromycin		837 [M+H] ⁺	679 [M+H-desosamine] ⁺	158 [desosamine+H] ⁺
Tylosin		916 [M+H] ⁺	772 [M+H-C ₇ H ₁₂ O ₃] ⁺	-

^asee Fig. 1.

cycline, m/z 461; tetracycline, m/z 445; chlortetracycline, m/z 479; doxycycline, m/z 445)가 가장 강한 이온으로 나타난다. 그러나 이 질량 이온 값들은 기기분석조건 및 실험 조건에 따라 약간의 차이를 나타낼 수 있다. Voyksner et al.²⁷의 연구에서는 tetracycline과 chlortetracycline의 경우 $[M+H-CONH_2]^+$ 의 값인 m/z 401과 435가 가장 강한 이온으로 나타난다고 발표되었으나, Oka et al.²⁸은 tetracycline의 경우 $[M+H-H_2O]^+$ (m/z 427), oxytetracycline은 $[M+H-HOCON]^+$ (m/z 418), chlortetracycline은 $[M+H-NH_2]^+$ (m/z 435)가 가장 이온 세기가 강한 이온이라고 발표하였다. TCs의 일반적인 분해 패턴은 $[M+H]^+$, $[M+H-NH_3]^+$, $[M+H-H_2O]^+$, $[M+H-NH_3-H_2O]^+$ 이다. 이때 H_2O 가 잘 떨어져 나가는 현상은 B ring의 hydroxyl group으로 인해서이다. 따라서 hydroxyl group을 가지고 있지 않은 doxycycline에서는 이 패턴이 보이지 않는다. 또한 NH_3 가 떨어져 나가는 패턴은 D ring의 carboxamide group에 의해서 일어난다.²⁹ TCs의 ESI tandem MS spectra를 Fig. 2에 실었다. TCs의 tandem 질량분석 스펙트럼에서 보듯이 이들

은 각 $[M+H]^+$ 이온으로부터 아민기가 떨어져 나가거나 물 분자가 떨어져 나간 이온들이 특성이온으로 검출되었다.

SAs의 대표적인 화합물들에 대한 ESI tandem MS spectra를 Fig. 3에 실었다. 스펙트럼상에서 보듯이 SAs류의 공통 조각이온은 *p*-aminobenzensulfonic acid moiety ($[M-RNH_2]^+$)인 m/z 156, m/z 108 ($[M-RNH_2-SO]^+$), m/z 92 ($[M-RNH_2-SO_2]^+$)와 다양한 amine 치환체로부터 유도된 이온인 RNH_3 ($[MH-155]^+$)이다. 또한 각 화합물의 특정 이온으로 $[MH-93]^+$ ($[O_2SNHR]^+$)와 $[MH-66]^+$ ($[MH-H_2SO_2]^+$)가 있다.⁷ 이들 스펙트럼에 대한 MS/MS 분해 경로는 Fig. 4에 나타내었다.

BLs의 penicilline계 확인 이온 (confirmatory ion)들은 β -lactam ring의 특징적인 쪼개짐으로 인하여 생성되는 m/z 160과 COOH가 빠진 m/z 114이다.⁷ BLs의 분해 패턴과 ESI tandem MS spectra를 Fig. 5와 6에 각각 나타내었다. 이때, penicillin G와 penicillin V는 β -lactam ring이 쪼개져서 나타나는 m/z 160의 값이 MS

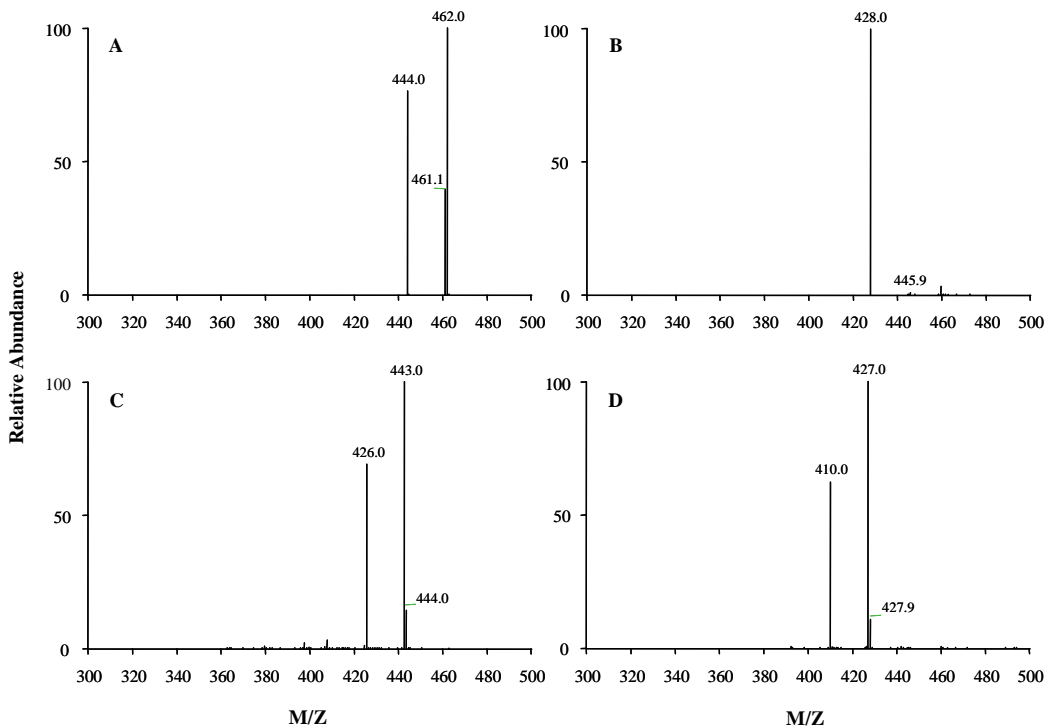


Fig. 2. ESI tandem mass spectra of standard tetracyclines; (A) Chlortetracycline (B) Doxycycline (C) Oxytetracycline (D) Tetracycline.

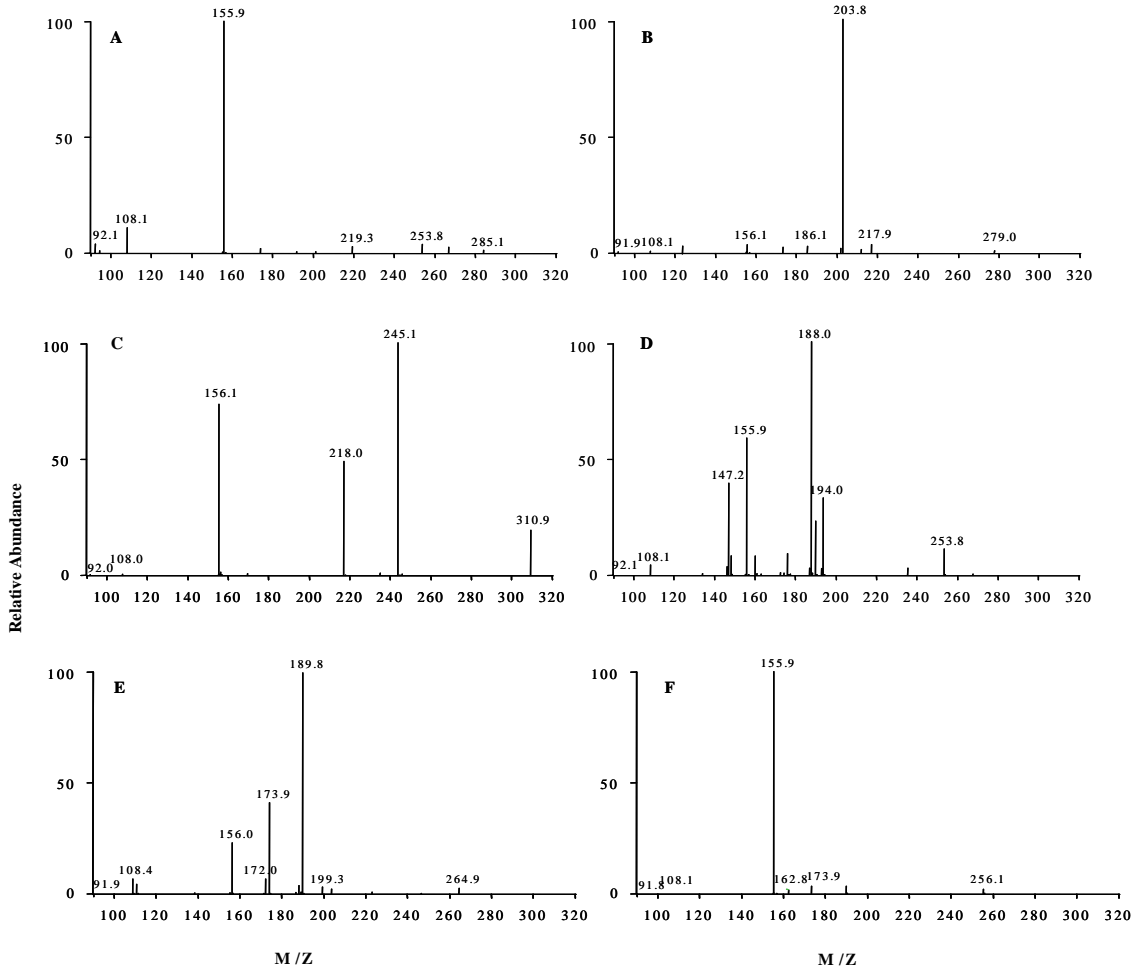


Fig. 3. ESI tandem mass spectra of standard sulfonamides; (A) Sulfachloropyridazine (B) Sulfamethazine (C) Sulfadimethoxine (D) Sulfamethoxazole (E) Sulfamerazine (F) Sulfathiazole.

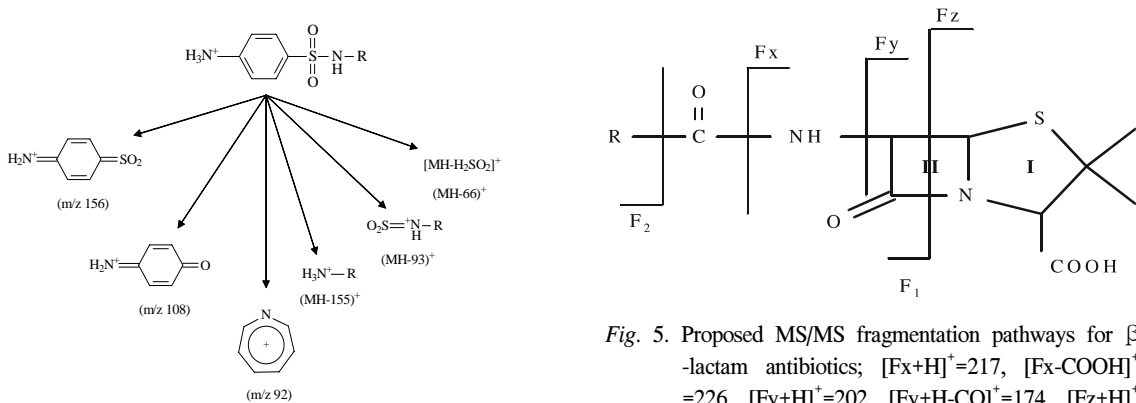


Fig. 4. Proposed MS/MS fragmentation pathways for protonated sulfonamides.⁷

Fig. 5. Proposed MS/MS fragmentation pathways for β -lactam antibiotics; $[F_x+H]^+=217$, $[F_x-COOH]^+=226$, $[F_y+H]^+=202$, $[F_y+H-CO]^+=174$, $[F_z+H]^+=160$, $[F_z-COOH]^+=114$; $[F_1+H]^+$, $[F_2+H]^+$.²

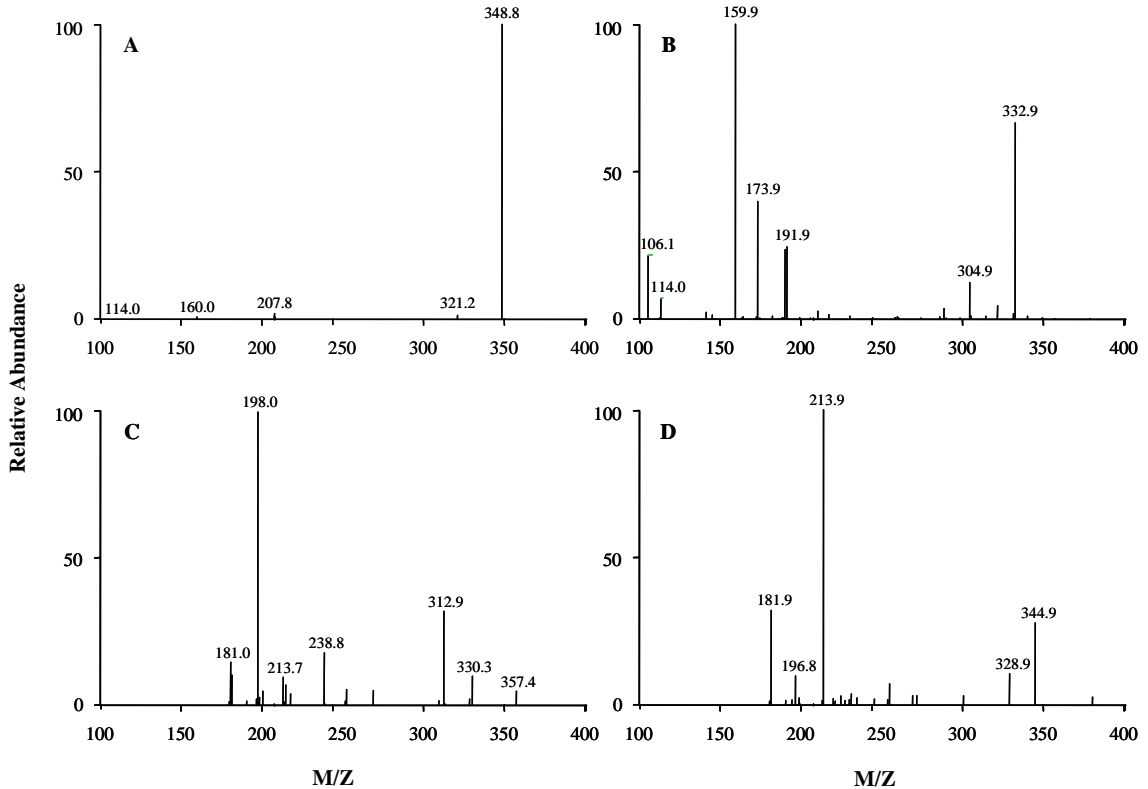


Fig. 6. ESI tandem mass spectra of standard β -lactams; (A) Amoxicillin (B) Ampicillin (C) Pencillin G (D) Penicillin V.

spectra에서 확인되었으나, MS/MS spectra에서는 이 이온이 나타나지 않았다.

MLs의 erythromycin은 $[M+H-H_2O]^+$, roxithromycin과 tylosin은 $[M+H]^+$ 가 주 이온이다. erythromycin과 roxithromycin은 이들의 두 개의 sugar (desosamine, cladinose)와 H_2O 의 손실과 관련하여 다양한 조각 이온 (fragment ion)이 생성된다. Fig. 7에는 macrolides

중 erythromycin과 tylosin의 ESI tandem MS spectra를 실었다. Erythromycine의 경우, desosamine group이 떨어져나간 이온인 m/z 576이 특성이온으로 나타났다. tylosin의 경우, 당이 떨어져나간 m/z 772 ($[M+H-C_7H_{12}O_3]^+$)이 단일 분해 이온으로 나타났다.²

항생제의 탄뎀질량분석 스펙트럼을 통하여 각 항생제의 구조확인을 위한 특성이온을 찾아낼 수 있으며,

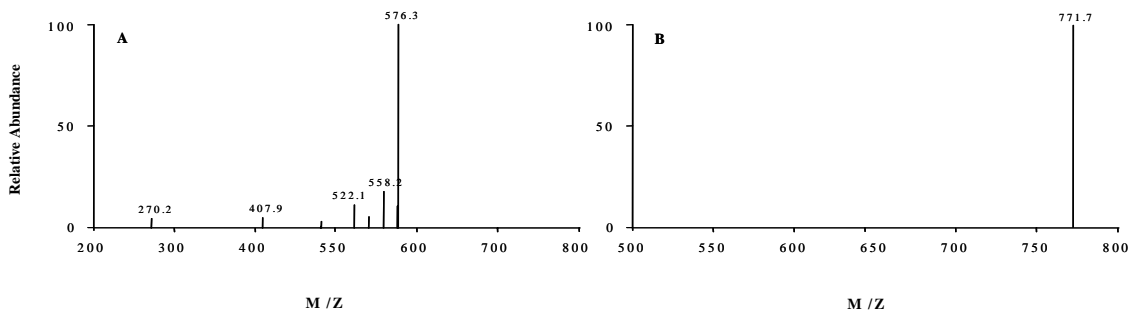


Fig. 7. ESI tandem mass spectra of standard macrolides; (A) Erythromycin (B) Tylosin.

LC와 같은 크로마토그래피를 연결한 LC/MS/MS에 적용하여 selected ion monitoring을 수행할 경우, 극미량의 항생제를 보다 정확한 정량 및 정성분석을 할 수 있는 커다란 장점이 있다.

5. 응용

5.1. 식품

국제단체들이 식품 내의 항생제 잔류물질 허용 기준을 제정함으로써 여러 식품들에 대한 정밀한 분석법이 개발되고 있다. 일반적으로 사용되는 추출법은 고체상 추출법으로 Fig. 8.에 간략하게 나타내었다. 그러나 식육, 어류, 우유 등의 식품은 매우 복잡한 생물 매질을 지니고 있어서 여러 항생제들을 동시에 분석하기는 쉽지 않다. 현재 발표된 분석법은 식품 내 존재하는 여러 항생제들을 동시에 분석하기 보다는 같은 계열 또는 비슷한 성질을 지닌 계열을 묶어 분석하는

추세이다.

분석하고자 하는 항생제의 종류에 따라 추출과정이나 기기조건에 차이가 있다. 또한 추출 효율을 높이고 다른 화합물과의 반응을 방지하기 위해 적당한 완충용액을 사용하기도 한다. 식품에 대한 분석 예로 Fig. 8에 우유와 달걀에서 항생제 잔류 물질을 분석하는 과정을 간략하게 나타내었다. Heller et al.³⁰은 달걀 안에 함유되어 있는 항생제들 중 sulfonamid계를 조사하기 위해 LC/MS/MS 분석을 통하여 이 계열의 화합물들이 공통적으로 가지고 있는 이온들 중 하나인 m/z 156의 이온 크로마토그램을 이용하여 분석하였다. Fig. 9에서 보듯이, MS/MS 실험을 통한 m/z 156 이온을 모니터링하게 되면 달걀의 복잡한 매트릭스에 의한 방해 물질들의 피이크가 배제된 상태에서 sulfonamide계 항생제 16종을 매우 정확한 정성 및 정량 분석을 수행한 결과였다.

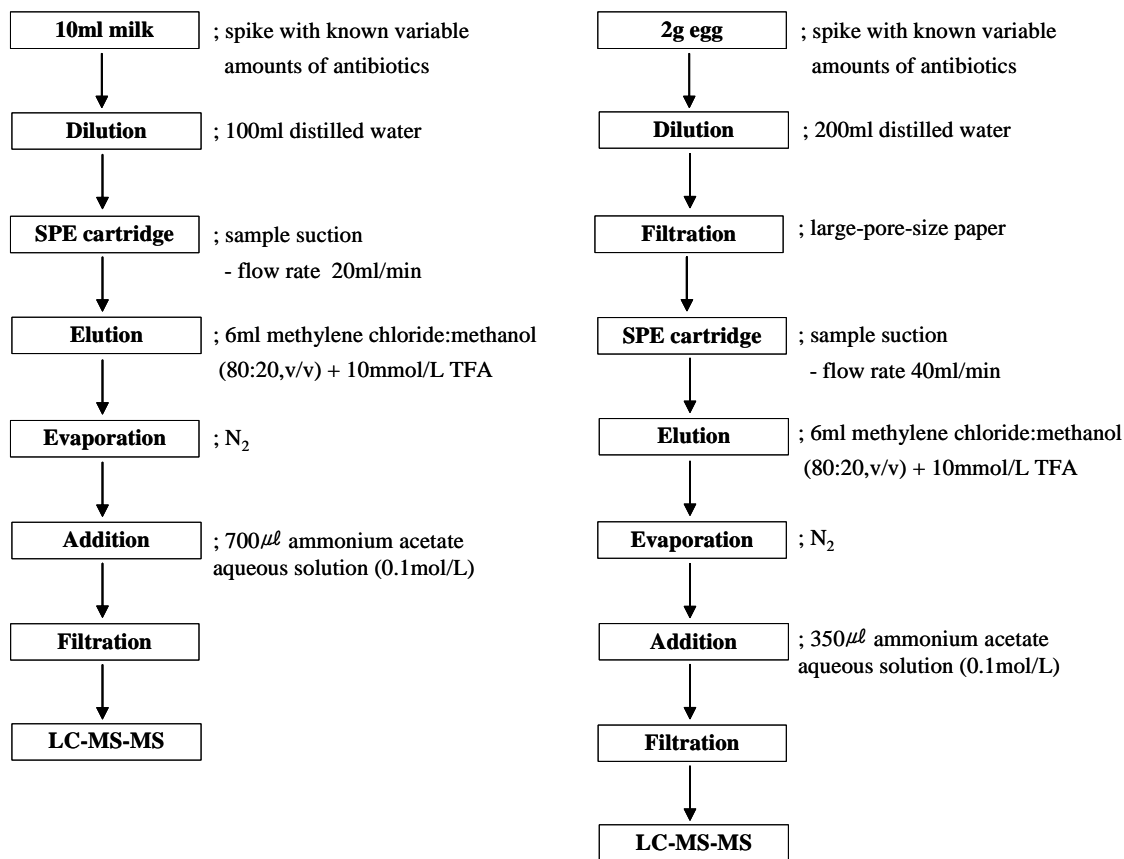


Fig. 8. Schematic of analytical procedures for determination of antibiotics in milk and egg.²⁸

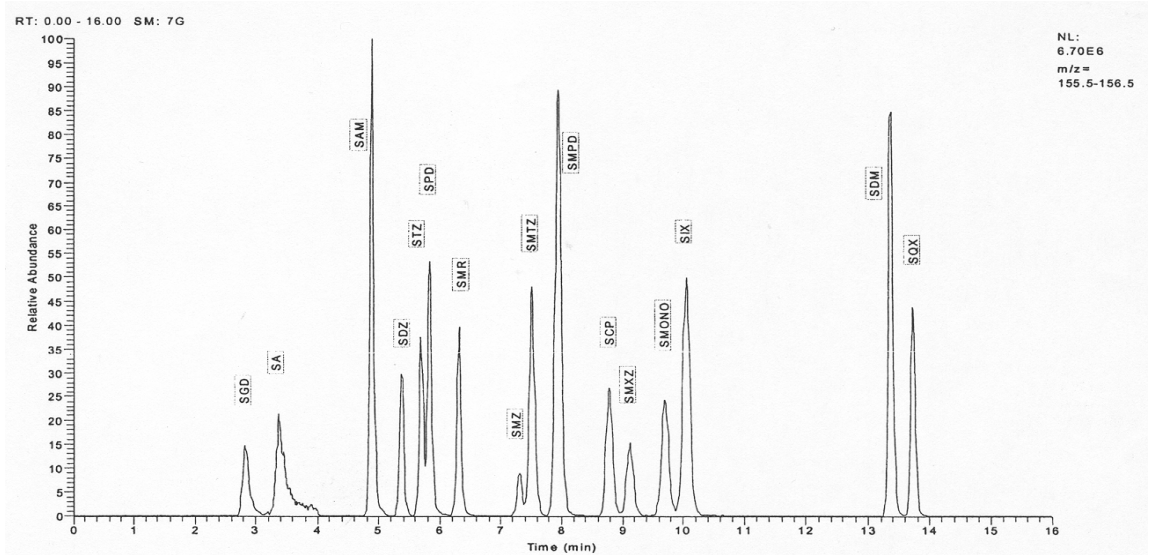


Fig. 9. Example of chromatogram from time-scheduled MS/MS, showing the ion chromatogram for m/z 156 common to various sulfonamides.³⁰

5.2. 수질

오늘날 환경 분석 분야에서 가장 시선을 모으고 있는 분야 중 하나가 수질이다. 수질 환경영향평가를 하기 위해서는 극성의 성질을 띤 유기 오염물의 농도가 분석되어야만 한다. 따라서 현재 농약, 의약품, 그리고 산업 화학물질과 이들의 대사산물 등의 분석이 이루어지고 있다.³¹ 특히 앞서 밝힌 항생제 잔류물질의

내성 변종 박테리아의 발현 문제와 관련하여 항생제 잔류물질에 대한 관심이 증폭되고 있으며, 이미 여러 연구를 통하여 수질 체계에 존재하는 항생제의 양을 조사하고 있다.^{18,20}

수질 환경으로 유입되는 항생제들은 인간과 동물의 의약품에서 비롯된다. 즉, 사용된 의약품들이 종종 부분적으로만 대사 작용을 한 후 소변과 변으로 배설되

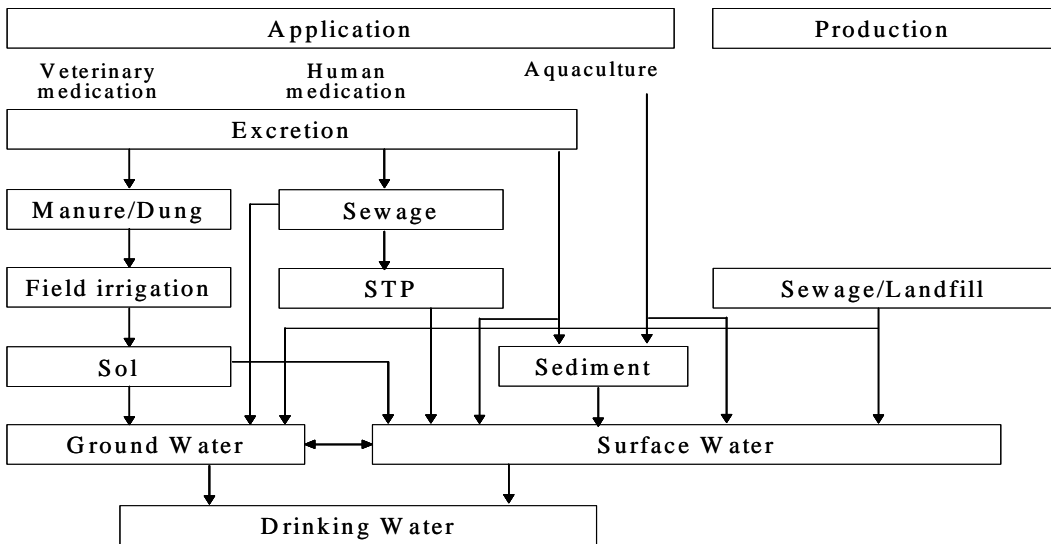


Fig. 10. Possible pathways of antibiotics into the environmental.³¹

면서 유입되는 것으로 추측 하고 있다 (Fig. 10).³¹

여러 가지 연구에도 불구하고 수질 환경에 존재하는 항생제를 비롯한 약품들의 분석이 거의 알려져 있지 않다. 이것은 환경에 존재하는 극미량의 잔류물질을 선택적으로 검출할 수 있는 정밀하고 정확한 방법이 없기 때문이다. 그러나 최근 LC/MS/MS를 이용한 분석법이 확산되어 고감도의 분석이 가능해짐에 따라 수질 시료에 대한 잔류물질 분석이 다양한 방법들이 발표되고 있다.³¹⁻³³ 최근 발표된 자료를 바탕으로 수질과 토양 시료를 분석하기 위한 실험 방법을 Fig. 11에 간략하게 정리하였다.³³ 실험방법에서 수질의 경우 SPE cartridge를 이용한 추출 및 정제를 수행하였고, 토양에서는 추출법을 최근에 많이 사용되고 있는 용매 가속추출법을 이용하여 추출한 후 물로 희석하여 LC/MS/MS법을 이용한 분석법이 개발되고 있다. 이들 방법은 예전의 방법에 비해 보다 실험과정이 길지 않고 간단한 전처리 과정이 특징이며, 또한 LC/MS/MS 기법을 이용한 정성 및 정량분석을 동시에 수행할 수 있는 장점을 가지고 있다.

6. 결 론

항생제 잔류물질을 분석하는 단계 중 가장 중요하고 복잡한 단계는 생물 매질로부터 이 화합물을 추출하고 정제하는 과정이다. 이 과정은 항생제 종류의 화학적 특성과 각 계열의 다양한 성분에 따라 여러 가지 방법이 적용되고 있다. 가장 대표적인 방법으로는 액-액 추출법과 고체상 추출법이 있으며, 시료의 성질에 따라 MSPD(matrix solid-phase dispersion) 방법도 사용되어지고 있다. 또한 정확하고 정밀하게 분석하기 위한 생물학적 또는 화학적인 분석법이 적용되고 있다. 현재는 항생제 각각의 정성 및 정량을 동시에 분석하기 위한 목적으로 질량분석기를 주로 사용하고 있다. 특히 LC-MS는 항생제 분석에 있어 가장 뛰어난 효율을 보인다고 평가된다. 또한 LC-MS 시스템에 새로이 도입된 대기압 광이온화 (atmospheric pressure photo-ionization, APPI) 방법³⁴은 ESI나 APCI 모드에서 나타나는 감도 문제를 해결해 줄 것이라 기대되고 있다.

항생제 잔류 물질의 분석법은 식품, 수질, 토양 등 다양한 매질에 따라 전 처리 방법들이 서로 상이하며 현재까지도 새로운 분석법이 개발되고 있다. 그러나 국내에서는 이들 물질에 대한 최신의 분석방법이 확립

되지 않은 실정이며, 그보다 더 큰 원인은 이들 항생제의 문제점에 대한 관심이 부족하기 때문이다. 그러나 여러 국제기관에서 이 물질에 대한 위험성을 경각시키며 중요하게 다루고 있는 실정이고, 이들의 정밀 분석법과 측정법을 개발하여 향후 항생제로 기인된 식품위생 문제 및 환경문제에 대하여 신속히 대처하여 나가고 있는 실정이기때 우리나라 역시 이 문제에 대한 대비를 서둘러야 할 것이다.

참고 문헌

1. A. Marzo, L. D. Bo, *J. Chromatogr. A*, **812**, 17-34(1998).
2. A. D. Corica, M. Nazzari, *J. Chromatogr. A*, **974**, 53-89(2002).
3. 박성국, 소비자를 위한 식품의약품 정보, 여름호 (2002).
4. M. M. L. Aerts, A. C. Hogenboom, U. A. Th. Brinkman, *J. Chromatogr. B*, **667** 1-40(1995).
5. D. W. Sin, Y. Wong, *Trends in Analytical Chemistry*, **22**, 11, 799-809(2003).
6. W. M. A. Niessen, *J. Chromatogr. A*, **812**, 53-75(1998).
7. D. G. Kennedy, R. J. McCracken, A. Cannavan, S. A. Hewitt, *J. Chromatogr. A*, **812**, 77-98(1998)
8. S. Thiele-Bruhn, *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, **166**, 145-167(2003).
9. A. T. Florence, D. Attwood, *Physico-chemical Principles of Pharmacy*, Chapman and Hall, New York(1981).
10. S. Guenu, M. C. Hennion, *J. Chromatogr. A*, **72**, 557-561(1996).
11. N. F. Ashton, C. McDermott, A. Brench, in T.C. Lo, M.H.I. Baird and C. Hanson (Editors), *Handbook of Solvent Extraction*, Wiley, New York, Ch. 1, p. 3 (1983).
12. M. F. Salvatore, S. E. Katz, *J. AOAC Int.*, **76**, 952(1993).
13. R. A. de Zeeuw, *J. Chromatogr. B*, **689**, 71(1997).
14. Juhel-Gaugain, J. D. McEvoy, van Ginkel, L. A., Fres., *J. Anal. Chem.* **368**, 656-663(2000).
15. A. Weimann, , G. Bojesen, *J. Chromatogr. B*, **721**,

- 47-54(1999).
16. A. D. Cooper, G. W. Stubbings, M. Kelly, J. A. Tarbin, W. H. Farrington, G. Shearer, *J. Chromatogr. A*, **812**, 321-326(1998).
 17. H. Oka, Y. Ito, H. Matsumoto, *J. Chromatogr. A*, **882**, 109-133(2000).
 18. J. Zhu, D. D. Snow, D. A. Cassada, S. J. Monson, R. F. Spalding, *J. Chromatogr. A*, **928**, 177-186 (2001).
 19. M. L. Loke, J. Tjørnelund, B. Halling-Sørensen, *Chemosphere*, **40**, 759-765(2002).
 20. M. E. Lindsey, T. M. Meyer, E. M. Thurman, *Anal. Chem.*, **73**, 4640-4646(2001).
 21. D. W. Kolpin, E. T. Furlong, M. T. Meyer, E. M. Thurman, S. D. Zaugg, L. B. Barber, H. T. Buxton, *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 1202-1211(2002).
 22. E. M. Golet, A. C. Alder, A. Hartmann, T. A. Ternes, W. Giger, *Anal. Chem.*, **73**, 3632-3638(2001).
 23. H. C. Higgins, J. D. G. McEvoy, *Food Addit. Contam.*, **19**, 819(2002).
 24. R. C. Beier, L. H. Stanker, *American Chemical Society, Symposium series* **621**, Washington DC, USA(1996).
 25. J. M. Katz, S. E. Katz, *J. Assoc. Anal. Chem.*, **66**, 640-645(1983).
 26. S. Sczesny, H. Nau, G. Hamscher, *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 697-703 (2003).
 27. R. D. Voyksner, C. S. Smith, P. C. Knox, *Bio. Environ. Mass Spectrom.*, **19**, 523-534(1990).
 28. H. Oka, J. Patterson, *Chemical Analysis of Antibiotics Used in Agriculture*, AOAC International, Arlington, VA., *Ch.* **10**, pp. 333-406(1995).
 29. H. Nakazawa, S. Ino, K. Kato, T. Watanabe, Y. Ito, H. Oka, *J. Chromatogr. B*, **732**, 55-64(1999).
 30. D. N. Heller, M. A. Ngoh, D. Donoghue, L. Podhorniak, *J. Chromatogr. B*, **774**, 39-52(2002).
 31. R. Hirsch, Th. Ternes, K. Haberer, K. L. Kratz, *The Science of the Total Environment*, **225**, 109-118(1999).
 32. R. Hirsch, Th. Ternes, K. Haberer, A. Mehlich, F. Ballwanz, K. L. Kratz, *J. Chromatogr. A*, **815**, 213-223(1998).
 33. T. Christian, R. J. Schneider, H. A. Färber, D. Skutlarek, M. T. Meyer, H. E. Goldbach, *Acta hydrochim. hydrobiol.*, **31**, 36-44(2003).
 34. D. B. Robb, T. R. Covey, A. P. Bruins, *Anal. Chem.*, **72**, 3653-3659(2000).